

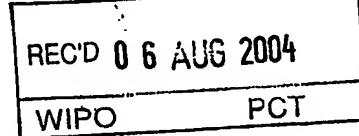
日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

16.6.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて  
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed  
with this Office.

出願年月日 2003年 6月16日  
Date of Application:



出願番号 特願2003-170324  
Application Number:  
[ST. 10/C]: [JP 2003-170324]

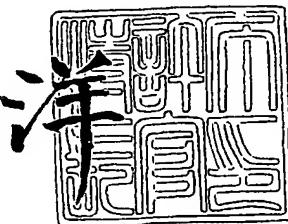
出願人 独立行政法人理化学研究所  
Applicant(s): 株式会社医学生物学研究所

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 7月22日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小川



【書類名】

特許願

【整理番号】

A31371A

【提出日】

平成15年 6月16日

【あて先】

特許庁長官 殿

【発明者】

【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢2番1号 理化学研究所内

【氏名】 宮脇 敦史

【発明者】

【住所又は居所】 長野県伊那市大字手良沢岡字大原 1063-103 株

式会社医学生物学研究所 伊那研究所内

【氏名】 唐澤 智司

【特許出願人】

【識別番号】 000006792

【氏名又は名称】 理化学研究所

【特許出願人】

【識別番号】 110000109

【氏名又は名称】 株式会社医学生物学研究所

【代理人】

【識別番号】 110000109

【氏名又は名称】 特許業務法人特許事務所サイクス

【代表者】 今村 正純

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 170347

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0205404

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 蛍光蛋白質

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 コモンサンゴ (*Montipora* sp.) 由来の下記の特性を有する  
蛍光蛋白質。

- (1) 励起極大波長が 507 nm である；
- (2) 蛍光極大波長が 517 nm である；
- (3) 507 nm におけるモル吸光係数が 104050 である；
- (4) 量子収率が 0.29 である；
- (5) 光吸収特性の pH 感受性が pKa = 約 5.5 である；

【請求項 2】 以下の何れかのアミノ酸配列を有する蛍光蛋白質。

(a) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列；又は、  
(b) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において 1 から数個のアミノ酸の欠失、  
置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列を有し、蛍光を有するアミノ酸配列：

【請求項 3】 請求項 1 又は 2 に記載の蛋白質をコードする DNA。

【請求項 4】 以下の何れかの DNA。

(a) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列をコードする DNA；又は、  
(b) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において 1 から数個のアミノ酸の欠失、  
置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列を有し、蛍光蛋白質をコードする DNA

A :

【請求項 5】 以下の何れかの塩基配列を有する DNA。

(a) 配列番号 2 に記載の塩基配列；又は、  
(b) 配列番号 2 に記載の塩基配列において 1 から数個の塩基の欠失、置換及び  
／又は付加を有する塩基配列を有し、蛍光蛋白質をコードする塩基配列：

【請求項 6】 請求項 4 又は 5 に記載の DNA を有する組み換えベクター。

【請求項 7】 請求項 4 又は 5 に記載の DNA 又は請求項 6 に記載の組み換  
えベクターを有する形質転換体。

【請求項 8】 請求項 1 又は 2 に記載の蛍光蛋白質と他の蛋白質とから成る  
融合蛍光蛋白質。

【請求項9】 他の蛋白質が細胞内に局在する蛋白質である、請求項8に記載の融合蛍光蛋白質。

【請求項10】 他の蛋白質が細胞内小器官に特異的な蛋白質である、請求項8又は9に記載の融合蛍光蛋白質。

【請求項11】 請求項8から10の何れかに記載の融合蛍光蛋白質を細胞内で発現させることを特徴とする、細胞内における蛋白質の局在または動態を分析する方法。

【請求項12】 請求項1又は2に記載の蛍光蛋白質、請求項3から5の何れかに記載のDNA、請求項6に記載の組み換えベクター、請求項7に記載の形質転換体、又は請求項8から10の何れかに記載の融合蛍光蛋白質を含む、蛍光試薬キット。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【0001】

#### 【発明の属する技術分野】

本発明は、新規な蛍光蛋白質に関する。より詳細には、本発明は、コモンサンゴ (*Montipora sp.*) 由来の新規な蛍光蛋白質及びその利用に関する。

##### 【0002】

#### 【従来の技術】

クラゲのエクオレア・ビクトリア (*Aequorea victoria*) に由来する緑色蛍光蛋白質 (GFP) は、生物系において多くの用途を有する。最近、ランダム突然変異誘発法および半合理的(semi-rational)突然変異誘発法に基づいて、色を変化させたり、折りたたみ特性を改善したり、輝度を高めたり、あるいはpH感受性を改変したといった様々なGFP変異体が作製されている。遺伝子組み換え技術により他の蛋白質をGFP等の蛍光蛋白質に融合させて、それらの発現および輸送のモニタリングを行うことが行われている。

##### 【0003】

最もよく使用されるGFP変異体の一つとして黄色蛍光蛋白質 (YFP) が挙げられる。YFPは、クラゲ (*Aequorea*) GFP変異体の中でも最長波長の蛍光を示す。大部分のYFPの $\epsilon$ および $\Phi$ は、それぞれ $60,000\sim100,000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ およ

び0.6~0.8であり (Tsien, R. Y. (1998). Ann. Rev. Biochem. 67, 509-544) 、これらの値は、一般的な蛍光団 (フルオレセインおよびローダミンなど) の値に匹敵する。従ってYFPの絶対的輝度の改善は、ほぼ限界に達しつつある。

#### 【0004】

また、GFP変異体の他の例として、シアン蛍光蛋白質 (CFP) があり、E CFP (enhanced cyan fluorescent protein) が知られている。また、イソギンチャク (Discomia sp.) からは赤色蛍光蛋白質 (RFP) も単離されており、Ds Redが知られている。このように蛍光蛋白質は、緑色、黄色、シアン色、赤色の4種が次々と開発されスペクトルの範囲は大幅に広がっている。

#### 【0005】

また、刺胞動物には、蛍光を発するものが存在する。刺胞動物由来の蛍光蛋白質遺伝子のクローニングが試みられているが、蛍光および生化学的な特性のレパートリーを増やすためには、より多くの遺伝子のクローニングが必要である。

#### 【0006】

##### 【非特許文献1】

Tsien, R. Y. (1998). Ann. Rev. Biochem. 67, 509-544

#### 【0007】

##### 【発明が解決しようとする課題】

本発明は、コモンサンゴ (Montipora sp.) に由来する、新規な蛍光蛋白質を提供することを解決すべき課題とした。

#### 【0008】

##### 【課題を解決するための手段】

上記課題を解決するために本発明者らは鋭意検討し、既知の蛍光蛋白質のアミノ酸配列の情報に基づいて好適なプライマーを設計し、コモンサンゴ (Montipora sp.) 由来のcDNAライブラリーから上記プライマーを用いて新規な蛍光蛋白質をコードする遺伝子を增幅してクローニングすることに成功した。さらに本発明者らは、得られたコモンサンゴ (Montipora sp.) 由来の蛍光蛋白質の蛍光特性及びpH感受性を解析した。本発明は、これらの知見に基づいて完成したものである。

## 【0009】

即ち、本発明によれば、コモンサンゴ (Montipora sp.) 由来の下記の特性を有する蛍光蛋白質が提供される。

- (1) 勵起極大波長が 507 nm である；
- (2) 蛍光極大波長が 517 nm である；
- (3) 507 nm におけるモル吸光係数が 104050 である；
- (4) 量子収率が 0.29 である；
- (5) 光吸収特性の pH 感受性が pKa = 約 5.5 である；

## 【0010】

本発明の別の側面によれば、以下の何れかのアミノ酸配列を有する蛍光蛋白質が提供される。

- (a) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列；又は、
- (b) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において 1 から数個のアミノ酸の欠失、置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列を有し、蛍光を有するアミノ酸配列；

## 【0011】

本発明のさらに別の側面によれば、本発明の蛋白質をコードする DNA が提供される。

本発明のさらに別の側面によれば、以下の何れかの DNA が提供される。

- (a) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列をコードする DNA；又は、
- (b) 配列番号 1 に記載のアミノ酸配列において 1 から数個のアミノ酸の欠失、置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列を有し、蛍光蛋白質をコードする DNA；

A：

## 【0012】

本発明のさらに別の側面によれば、以下の何れかの塩基配列を有する DNA が提供される。

- (a) 配列番号 2 に記載の塩基配列；又は、
- (b) 配列番号 2 に記載の塩基配列において 1 から数個の塩基の欠失、置換及び／又は付加を有する塩基配列を有し、蛍光蛋白質をコードする塩基配列；

## 【0013】

本発明のさらに別の側面によれば、本発明のDNAを有する組み換えベクターが提供される。

本発明のさらに別の側面によれば、本発明のDNA又は組み換えベクターを有する形質転換体が提供される。

#### 【0014】

本発明のさらに別の側面によれば、本発明の蛍光蛋白質と他の蛋白質とから成る融合蛍光蛋白質が提供される。

好ましくは、他の蛋白質は細胞内に局在する蛋白質であり、さらに好ましくは、細胞内小器官に特異的な蛋白質である。

#### 【0015】

本発明のさらに別の側面によれば、本発明の融合蛍光蛋白質を細胞内で発現させることを特徴とする、細胞内における蛋白質の局在または動態を分析する方法が提供される。

#### 【0016】

本発明のさらに別の側面によれば、本発明の蛍光蛋白質、DNA、組み換えベクター、形質転換体、又は融合蛍光蛋白質を含む、蛍光試薬キットが提供される。

。

#### 【0017】

##### 【発明の実施の形態】

以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。

###### (1) 本発明の蛍光蛋白質

本発明の蛍光蛋白質は、コモンサンゴ (*Montipora sp.*) 由来のものであり、下記の特性を有することを特徴とする。

- (1) 励起極大波長が 507 nm である；
- (2) 蛍光極大波長が 517 nm である；
- (3) 507 nm におけるモル吸光係数が 104050 である；
- (4) 量子収率が 0.29 である；
- (5) 光吸収特性の pH 感受性が pKa = 約 5.5 である；

#### 【0018】

コモンサンゴ (*Montipora* sp.) は、刺胞動物門花虫綱六放サンゴ亜綱イシサンゴ目ミドリイシ科に属するサンゴの1種であり、塊状や被覆状の群体を形成することが多い。

#### 【0019】

本発明の蛍光蛋白質は、以下の実施例で示す通り、励起極大波長が507 nmであり、蛍光極大波長が517 nmである。また、507 nmにおけるモル吸光係数は104050であり、量子収率は0.29である。モル吸光係数は蛍光分子1モルあたりの光子の吸収量を表し、量子収率は吸収した光子のどれだけを蛍光として発することができるかを表した数値である。

#### 【0020】

本発明の蛍光蛋白質の具体例としては、以下の何れかのアミノ酸配列を有する蛍光蛋白質が挙げられる。

(a) 配列番号1に記載のアミノ酸配列；又は、

(b) 配列番号1に記載のアミノ酸配列において1から数個のアミノ酸の欠失、置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列を有し、かつ蛍光を有するアミノ酸配列：

#### 【0021】

本明細書で言う「1から数個のアミノ酸の欠失、置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列」における「1から数個」の範囲は特に限定されないが、例えば、1から20個、好ましくは1から10個、より好ましくは1から7個、さらに好ましくは1から5個、特に好ましくは1から3個程度を意味する。

#### 【0022】

本明細書で言う「蛍光を有する」および「蛍光蛋白質」とは、蛍光を発することができる全ての場合を包含し、蛍光強度、励起波長、蛍光波長、pH感受性などの諸特性は、配列番号1に記載のアミノ酸配列を有する蛋白質と比較して、変動していてもよいし、同様のままでもよい。

#### 【0023】

本発明の蛍光蛋白質の取得方法については特に制限はなく、化学合成により合成した蛋白質でもよいし、遺伝子組み換え技術による作製した組み換え蛋白質で

もよい。

組み換え蛋白質を作製する場合には、先ず当該蛋白質をコードするDNA入手することが必要である。本明細書の配列表の配列番号1に記載したアミノ酸配列並びに配列番号2に記載した塩基配列の情報を利用することにより適当なプライマーを設計し、それらを用いてコモンサンゴ（Montipora sp.）由来のcDNAライブラリーを鋳型にしてPCRを行うことにより、本発明の蛍光蛋白質をコードするDNAを取得することができる。本発明の蛍光蛋白質をコードするDNAの一部の断片を上記したPCRにより得た場合には、作製したDNA断片を順番に遺伝子組み換え技術により連結することにより、所望の蛍光蛋白質をコードするDNAを得ることができる。このDNAを適当な発現系に導入することにより、本発明の蛍光蛋白質を産生することができる。発現系での発現については本明細書中後記する。

#### 【0024】

##### (2) 本発明のDNA

本発明によれば、本発明の蛍光蛋白質をコードする遺伝子が提供される。

本発明の蛍光蛋白質をコードするDNAの具体例としては、以下の何れかのDNAが挙げられる。

- (a) 配列番号1に記載のアミノ酸配列をコードするDNA；又は、
- (b) 配列番号1に記載のアミノ酸配列において1から数個のアミノ酸の欠失、置換及び／又は付加を有するアミノ酸配列をコードし、かつ蛍光蛋白質をコードするDNA。

本発明の蛍光蛋白質をコードするDNAのさらなる具体例としては、以下の何れかのDNAが挙げられる。

- (a) 配列番号2に記載の塩基配列を有するDNA；又は、
- (b) 配列番号2に記載の塩基配列において1から数個の塩基の欠失、置換及び／又は付加を有する塩基配列を有し、かつ蛍光蛋白質をコードするDNA：

#### 【0025】

本発明のDNAは、例えばホスホアミダイト法などにより合成することができるし、特異的プライマーを用いたポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によって製造

することができる。本発明のDNA又はその断片の作製方法については、本明細書中上述した通りである。

### 【0026】

また、所定の核酸配列に所望の変異を導入する方法は当業者に公知である。例えば、部位特異的変異誘発法、縮重オリゴヌクレオチドを用いるPCR、核酸を含む細胞の変異誘発剤又は放射線への露出等の公知の技術を適宜使用することによって、変異を有するDNAを構築することができる。このような公知の技術は、例えば、Molecular Cloning: A laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY., 1989、並びにCurrent Protocols in Molecular Biology, Supplement 1~38, John Wiley & Sons (1987-1997)に記載されている。

### 【0027】

#### (3) 本発明の組み換えベクター

本発明のDNAは適当なベクター中に挿入して使用することができる。本発明で用いるベクターの種類は特に限定されず、例えば、自立的に複製するベクター（例えばプラスミド等）でもよいし、あるいは、宿主細胞に導入された際に宿主細胞のゲノムに組み込まれ、組み込まれた染色体と共に複製されるものであってもよい。

### 【0028】

好ましくは、本発明で用いるベクターは発現ベクターである。発現ベクターにおいて本発明のDNAは、転写に必要な要素（例えば、プロモーター等）が機能的に連結されている。プロモータは宿主細胞において転写活性を示すDNA配列であり、宿主の種類に応じて適宜することができる。

### 【0029】

細菌細胞で作動可能なプロモータとしては、バチルス・ステアロテルモフィルス・マルトジエニック・アミラーゼ遺伝子(Bacillusstearothermophilus maltogenic amylase gene)、バチルス・リケニホルミス $\alpha$ アミラーゼ遺伝子(Bacillus licheniformis alpha-amylase gene)、バチルス・アミロリケファチエンス・BANアミラーゼ遺伝子(Bacillus amyloliquefaciens BAN amylase gene)、バチルス

・サブチリス・アルカリプロテアーゼ遺伝子(Bacillus Subtilis alkaline protease gene)もしくはバチルス・プミルス・キシロシダーゼ遺伝子(Bacillus pumilus xylosidase gene)のプロモータ、またはファージ・ラムダのP<sub>R</sub>若しくはP<sub>L</sub>プロモータ、大腸菌の lac、trp若しくはtacプロモータなどが挙げられる。

### 【0030】

哺乳動物細胞で作動可能なプロモータの例としては、SV40プロモータ、MT-1(メタロチオネイン遺伝子)プロモータ、またはアデノウイルス2主後期プロモータなどがある。昆虫細胞で作動可能なプロモータの例としては、ポリヘドリンプロモータ、P10プロモータ、オートグラファ・カリホルニカ・ポリヘドロシス塩基性タンパクプロモータ、バキュウロウイルス即時型初期遺伝子1プロモータ、またはバキュウロウイルス39K遅延型初期遺伝子プロモータ等がある。酵母宿主細胞で作動可能なプロモータの例としては、酵母解糖系遺伝子由來のプロモータ、アルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子プロモータ、TP11プロモータ、ADH2-4cプロモータなどが挙げられる。

糸状菌細胞で作動可能なプロモータの例としては、ADH3プロモータまたはtpiAプロモータなどがある。

### 【0031】

また、本発明のDNAは必要に応じて、例えばヒト成長ホルモンターミネータまたは真菌宿主についてはTP11ターミネータ若しくはADH3ターミネータのような適切なターミネータに機能的に結合されてもよい。本発明の組み換えベクターは更に、ポリアデニレーションシグナル(例えばSV40またはアデノウイルス5E1b領域由來のもの)、転写エンハンサ配列(例えばSV40エンハンサ)および翻訳エンハンサ配列(例えばアデノウイルスVA RNAをコードするもの)のような要素を有していてもよい。

本発明の組み換えベクターは更に、該ベクターが宿主細胞内で複製することを可能にするDNA配列を具備してもよく、その一例としてはSV40複製起点(宿主細胞が哺乳類細胞のとき)が挙げられる。

### 【0032】

本発明の組み換えベクターはさらに選択マーカーを含有してもよい。選択マ

カーとしては、例えば、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（D H F R）またはシゾサッカロマイセス・ポンベT P I遺伝子等のようなその補体が宿主細胞に欠けている遺伝子、または例えばアンピシリン、カナマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、ネオマイシン若しくはヒグロマイシンのような薬剤耐性遺伝子を挙げることができる。

本発明のD N A、プロモータ、および所望によりターミネータおよび／または分泌シグナル配列をそれぞれ連結し、これらを適切なベクターに挿入する方法は当業者に周知である。

### 【0033】

#### (4) 本発明の形質転換体

本発明のD N A又は組み換えベクターを適当な宿主に導入することによって形質転換体を作製することができる。

本発明のD N Aまたは組み換えベクターを導入される宿主細胞は、本発明のD N A構築物を発現できれば任意の細胞でよく、細菌、酵母、真菌および高等真核細胞等が挙げられる。

### 【0034】

細菌細胞の例としては、バチルスまたはストレプトマイセス等のグラム陽性菌又は大腸菌等のグラム陰性菌が挙げられる。これら細菌の形質転換は、プロトプラス法、または公知の方法でコンピテント細胞を用いることにより行なえばよい。

哺乳類細胞の例としては、H E K 2 9 3 細胞、H e L a 細胞、C O S 細胞、B H K 細胞、C H L 細胞またはC H O 細胞等が挙げられる。哺乳類細胞を形質転換し、該細胞に導入されたD N A配列を発現させる方法も公知であり、例えば、エレクトロポレーション法、リン酸カルシウム法、リポフェクション法等を用いることができる。

### 【0035】

酵母細胞の例としては、サッカロマイセスまたはシゾサッカロマイセスに属する細胞が挙げられ、例えば、サッカロマイセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)またはサッカロマイセス・クルイベリ(*Saccharomyces kluyveri*)等が

挙げられる。酵母宿主への組み換えベクターの導入方法としては、例えば、エレクトロポレーション法、スフェロプラスト法、酢酸リチウム法等を挙げることができる。

### 【0036】

他の真菌細胞の例は、糸状菌、例えばアスペルギルス、ニューロスボラ、フザリウム、またはトリコデルマに属する細胞である。宿主細胞として糸状菌を用いる場合、DNA構築物を宿主染色体に組み込んで組換え宿主細胞を得ることにより形質転換を行うことができる。DNA構築物の宿主染色体への組み込みは、公知の方法に従い、例えば相同組換えまたは異種組換えにより行うことができる。

### 【0037】

昆虫細胞を宿主として用いる場合には、組換え遺伝子導入ベクターおよびバキュロウイルスを昆虫細胞に共導入して昆虫細胞培養上清中に組換えウイルスを得た後、さらに組換えウイルスを昆虫細胞に感染させ、蛋白質を発現させることができ（例えば、Baculovirus Expression Vectors, A Laboratory Manual；及びカレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー、Bio/Technology, 6, 47(1988)等に記載）。

### 【0038】

バキュロウイルスとしては、例えば、ヨトウガ科昆虫に感染するウイルスであるアウトグラファ・カリフォルニカ・ヌクレア・ポリヘドロシス・ウイルス(*Autographa californica nuclear polyhedrosis virus*)等を用いることができる。

昆虫細胞としては、*Spodoptera frugiperda*の卵巣細胞であるSf9、Sf21〔バキュロウイルス・エクスプレッション・ベクターズ、ア・ラボラトリ・マニュアル、ダブリュー・エイチ・フリーマン・アンド・カンパニー(W. H. Freeman and Company)、ニューヨーク(New York)、(1992)〕、*Trichoplusia ni*の卵巣細胞であるHiFive(インビトロジェン社製)等を用いることができる。

組換えウイルスを調製するための、昆虫細胞への組換え遺伝子導入ベクターと上記バキュロウイルスの共導入方法としては、例えば、リン酸カルシウム法又はリポフェクション法等を挙げることができる。

## 【0039】

上記の形質転換体は、導入されたDNA構築物の発現を可能にする条件下で適切な栄養培地中で培養する。形質転換体の培養物から、本発明の蛍光融合蛋白質を単離精製するには、通常の蛋白質の単離、精製法を用いればよい。

例えば、本発明の蛋白質が、細胞内に溶解状態で発現した場合には、培養終了後、細胞を遠心分離により回収し水系緩衝液に懸濁後、超音波破碎機等により細胞を破碎し、無細胞抽出液を得る。該無細胞抽出液を遠心分離することにより得られた上清から、通常の蛋白質の単離精製法、即ち、溶媒抽出法、硫安等による塩析法、脱塩法、有機溶媒による沈殿法、ジエチルアミノエチル(DEAE)セファロース等のレジンを用いた陰イオン交換クロマトグラフィー法、S-Sepharose FF(ファルマシア社製)等のレジンを用いた陽イオン交換クロマトグラフィー法、ブチルセファロース、フェニルセファロース等のレジンを用いた疎水性クロマトグラフィー法、分子篩を用いたゲルろ過法、アフィニティーコロマトグラフィー法、クロマトフォーカシング法、等電点電気泳動等の電気泳動法等の手法を単独あるいは組み合わせて用い、精製標品を得ることができる。

## 【0040】

(5) 本発明の蛍光蛋白質及びそれを含む融合蛍光蛋白質の利用

本発明は蛍光蛋白質を他の蛋白質と融合させることにより、融合蛍光蛋白質を構築することができる。

本発明の融合蛍光蛋白質の取得方法については特に制限はなく、化学合成により合成した蛋白質でもよいし、遺伝子組み換え技術による作製した組み換え蛋白質でもよい。

組み換え蛋白質を作製する場合には、先ず当該蛋白質をコードするDNAを入手することが必要である。本明細書の配列表の配列番号1に記載したアミノ酸配列及び配列番号2に記載した塩基配列の情報を利用することにより適当なプライマーを設計し、本発明の蛍光蛋白質の遺伝子を含むDNA断片を鋳型にしてPCRを行うことにより、本発明の蛍光蛋白質をコードするDNAを構築するのに必要なDNA断片を作製することができる。また同様に、融合すべき蛋白質をコードするDNA断片も入手する。

## 【0041】

次いで、これらのDNA断片を順番に遺伝子組み換え技術により連結することにより、所望の融合蛍光蛋白質をコードするDNAを得ることができる。このDNAを適当な発現系に導入することにより、本発明の融合蛍光蛋白質を産生することができる。

## 【0042】

本発明の蛍光蛋白質は、特に、標識としての利用価値が高い。即ち、本発明の蛍光蛋白質を被検アミノ酸配列との融合蛋白質として精製し、マイクロインジェクション法などの手法により細胞内に導入し、該融合蛋白質の分布を経時的に観察すれば、被検アミノ酸配列の細胞内におけるターゲッティング活性を検出することが可能である。

## 【0043】

本発明の蛍光蛋白質を融合させる他の蛋白質（被検アミノ酸配列）の種類は特に限定されるものではないが、例えば、細胞内に局在する蛋白質、細胞内小器官に特異的な蛋白質、ターゲッティングシグナル（例えば、核移行シグナル、ミトコンドリアプレ配列）等が好適である。なお、本発明の蛍光蛋白質は、マイクロインジェクション法などにより細胞内に導入する以外に、細胞内で発現させて用いることも可能である。この場合には、本発明の蛍光蛋白質をコードするDNAが発現可能に挿入されたベクターが宿主細胞に導入される。

## 【0044】

また、本発明の蛍光蛋白質は、レポーター蛋白質としてプロモーター活性の測定に用いることも可能である。即ち、被検プロモーターの下流に、本発明の蛍光蛋白質をコードするDNAが配置されたベクターを構築し、これを宿主細胞に導入し、該細胞から発せられる本発明の蛍光蛋白質の蛍光を検出することにより、被検プロモーターの活性を測定することが可能である。被検プロモーターとしては、宿主細胞内で機能するものであれば、特に制限はない。

## 【0045】

上記被検アミノ酸配列のターゲッティング活性の検出やプロモーター活性の測定において用いられるベクターとしては、特に制限はないが、例えば、動物細胞用

ベクターでは、「pNEO」(P. Southern, and P. Berg (1982) J. Mol. Appl. Genet. 1:327)、「pCAGGS」(H. Niwa, K. Yamamura, and J. Miyazaki. Gene 108, 193-200(1991))、「pRc/CMV」(インビトロゲン社製)、「pCDM8」(インビトロゲン社製)などが、酵母用ベクターでは、「pRS303」、「pRS304」、「pRS305」、「pRS306」、「pRS313」、「pRS314」、「pRS315」,[pRS316] (R. S. Sikorski and P. Hietter (1989) Genetics 122: 19-27)、「pRS423」、「pRS424」、「pRS425」、「pRS426」(T. W. Christianson, R. S. Sikorski, M. Dante, J. H. Shero, and P. Hietter (1992) Gene 110: 119-122)などが好適に用いられる。

#### 【0046】

また、使用可能な細胞の種類も特に限定されず、各種の動物細胞、例えば、L細胞、BalbC-3T3細胞、NIH3T3細胞、CHO(Chinese hamster ovary)細胞、HeLa細胞、NRK(normal rat kidney)細胞、「Saccharomyces cerevisiae」などの酵母細胞や大腸菌 (E. coli) 細胞などを使用することができる。ベクターの宿主細胞への導入は、例えば、リン酸カルシウム法やエレクトロポレーション法などの常法により行うことができる。

#### 【0047】

上記のようにして得た、本発明の蛍光蛋白質と他の蛋白質（蛋白質Xとする）とを融合させた融合蛍光蛋白質を細胞内で発現させ、発する蛍光をモニターすることにより、細胞内における蛋白質Xの局在や動態を分析することが可能になる。即ち、本発明の融合蛍光蛋白質をコードするDNAで形質転換またはトランスフェクトした細胞を蛍光顕微鏡で観察することにより細胞内における蛋白質Xの局在や動態を可視化して分析することができる。

#### 【0048】

例えば、蛋白質Xとして細胞内オルガネラに特異的な蛋白質を利用するにより、核、ミトコンドリア、小胞体、ゴルジ体、分泌小胞、ペルオキソームなどの分布や動きを観察できる。

また、例えば、神経細胞の軸索、樹状突起などは発生途中の個体の中で著しく複雑な走向の変化を示すので、こういった部位を蛍光ラベルすることにより動的解析が可能になる。

### 【0049】

本発明の蛍光蛋白質の蛍光は、生細胞のまま検出することが可能である。この検出は、例えば、蛍光顕微鏡（カールツァイス社 アキシオフォト フィルターセット09）や画像解析装置（ATTO デジタルイメージアナライザー）などを用いて行うことが可能である。

顕微鏡の種類は目的に応じて適宜選択できる。経時変化を追跡するなど頻回の観察を必要とする場合には、通常の落射型蛍光顕微鏡が好ましい。細胞内の詳細な局在を追及したい場合など、解像度を重視する場合は、共焦点レーザー顕微鏡の方が好ましい。顕微鏡システムとしては、細胞の生理状態を保ち、コンタミネーションを防止する観点から、倒立型顕微鏡が好ましい。正立顕微鏡を使用する場合、高倍率レンズを用いる際には水浸レンズを用いることができる。

### 【0050】

フィルターセットは蛍光蛋白質の蛍光波長に応じて適切なものを選択できる。本発明の蛍光蛋白質の場合、励起光490～510nm、蛍光510～530nm程度のフィルターを使用することが好ましい。

### 【0051】

また、蛍光顕微鏡を用いた生細胞での経時観察を行う場合には、短時間で撮影を行うべきなので、高感度冷却CCDカメラを使用する。冷却CCDカメラは、CCDを冷却することにより熱雑音を下げ、微弱な蛍光像を短時間露光で鮮明に撮影することができる。

### 【0052】

#### (6) 本発明のキット

本発明によれば、本明細書に記載した蛍光蛋白質、融合蛍光蛋白質、DNA、組み換えベクター又は形質転換体から選択される少なくとも1種以上を含むことを特徴とする、細胞内成分の局在の分析及び／又は生理活性物質の分析のためのキットが提供される。本発明のキットは、それ自体既知の通常用いられる材料及び手法で調製することができる。

蛍光蛋白質又はDNAなどの試薬は、適当な溶媒に溶解することにより保存に適した形態に調製することができる。溶媒としては、水、エタノール、各種緩衝

液などを用いることができる。

以下の実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明は実施例によって限定されるものではない。

### 【0053】

#### 【実施例】

実施例1：イシサンゴからの新規蛍光蛋白遺伝子(COG)の単離、並びに蛍光特性の解析

##### (1) total RNAの抽出

珊瑚より蛍光蛋白質遺伝子の単離を行った。材料にはコモンサンゴ (Montipora sp.) を用いた。凍結したコモンサンゴを乳鉢で碎き、湿重量2グラムに"TRIzol" (GIBCO BRL) を7.5 ml加えてホモジナイズし、1500×gで10分間遠心した。上清にクロロホルム1.5 mlをくわえ、15秒間攪拌した後3分間静置した。7500×gで15分間遠心した。上清にイソプロパノール3.75 mlをくわえ、15秒間攪拌した後10分間静置した。17000×gで10分間遠心した。上清を捨て70%エタノールを6 ml加えて17000×gで10分間遠心した。上清を捨て沈殿をDEPC水200 μlで溶解した。DEPC水で溶解したtotal RNAを100倍に希釈してO.D. 260とO.D. 280の値を測定してRNA濃度を測った。22 μgのtotal RNAを得た。

### 【0054】

##### (2) First strand cDNAの合成

total RNA 4 μgを使用し、First strand cDNAの合成キット"Ready To Go" (Amersham Pharmacia)によりcDNA(33 μl)を合成した。

### 【0055】

##### (3) Degenerated PCR

合成したFirst strand cDNA(33 μl)のうち3 μlを鋳型としてPCRを行った。

プライマーのデザインは既知の蛍光蛋白のアミノ酸配列を見比べて、似ている部分を抜き出し、塩基配列に変換し直し作製した。

使用プライマー

5'-GAAGGRTGYGTCAAYGGRCA-3' (primer 1) (配列番号3)

5'-ACVGGDCATYDGVAAGAAARTT-3' (primer 2) (配列番号4)

I=イノシン、R=A又はG、Y=C又はT、V=A, C又はG、D=A, G又はT S=C又はG、H=A又はT又はC

### 【0056】

PCR反応液組成

テンプレート (first strand cDNA)	3 $\mu$ l
X10 taq バッファー	5 $\mu$ l
2.5 mM dNTPs	4 $\mu$ l
100 $\mu$ M primer1	1 $\mu$ l
100 $\mu$ M primer2	1 $\mu$ l
ミリQ	35 $\mu$ l
taq polymerase(5 U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l

### 【0057】

PCR反応条件

94°C 1 min(PAD)

94°C 30 sec (変性)

52°C 30 sec (錆型へのプライマーのアニーリング)

72°C 1 min (プライマー伸長)

上記3ステップを35サイクル行った。

72°C 7 min (最後の伸長)

4°C 保持

### 【0058】

一回目のPCR反応で得られた増幅産物1  $\mu$  lをテンプレートとして、もう一度同じ条件でPCRを行った。アガロースゲル電気泳動で、350 bpを切り出し、精製した。

### 【0059】

#### (4) サブクローニング及び塩基配列の決定

精製したDNA断片をpT7-blue vector(Novagen)にライゲーションした。大腸菌株 (TG1) にトランسفォーメーションしてブルーホワイトセレクションを行い、白いコロニーの大腸菌よりplasmid DNAを精製して、挿入されたDNA断片の塩基

配列をDNAシークエンサーにより決定した。得られた塩基配列を他の蛍光蛋白遺伝子の塩基配列と比較してそのDNA塩基配列が蛍光蛋白由来のものであるかを判断した。蛍光蛋白遺伝子の一部であると判断したものに関して、5'-RACE法および3'-RACE法による遺伝子全長のクローニングを行った。

### 【0060】

#### (5) 5'-RACE法

Degenerated PCRで得られたDNA断片の5'側の塩基配列を決定するために5'-RACE System for Rapid Amplification of cDNA Ends, Version 2.0(GIBCO BRL)を用いて、5'-RACE法を行った。錆型として(1)で調製したtotal RNAを5μg使用した。

dC-tailed cDNAの一回目の增幅には

5'-GGCCACGCCGTCGACTAGTACGGGIIGGGIIGGGIIG-3' (primer 3) (配列番号5)

5'-CCATCTTCAAAGAGAAAAGACCTTT-3' (primer 4) (配列番号6)

のプライマーを用いた。

I=イノシン

二回目の增幅には

5'-GGCCACGCCGTCGACTAGTAC-3' (primer 5) (配列番号7)

5'-CATGAGTTCTTGAAATAGTCAAC-3' (primer 6) (配列番号8)

のプライマーを用いた。PCR反応条件等はキットのプロトコールに準じた。

### 【0061】

アガロースゲル電気泳動で、増幅された350 bpのバンドを切り出し、精製した。精製したDNA断片をpT7-blue vector(Novagen)にライゲーションした。大腸菌株(TG1)にトランスフォーメーションしてブルーホワイトセレクションを行い、白いコロニーの大腸菌よりplasmid DNAを精製して、挿入されたDNA断片の塩基配列をDNAシークエンサーにより決定した。

### 【0062】

#### (6) 3'-RACE法

Degenerated PCRで得られたDNA断片の3'側部分は、(4)の塩基配列決定で得られた情報を基に作製したプライマーとオリゴdTプライマーのPCRで得た。錆型

として(2)で調製したfirst strand cDNAを3μl使用した。

作成したプライマーは

5'-ATGGCTCTTCAAAGCGAGGTG-3' (primer 7) (配列番号9)

### 【0063】

PCR反応液組成

テンプレート (first strand cDNA)	3μl
X10 taq バッファー	5μl
2.5 mM dNTPs	4μl
20μM primer7	1μl
10μM オリゴdT primer	1μl
ミリQ	35μl
taq polymerase(5 U/μl)	1μl

### 【0064】

PCR反応条件

94℃ 1 min (PAD)

94℃ 30 sec (変性)

52℃ 30 sec (鋳型へのプライマーのアニーリング)

72℃ 1 min (プライマー伸長)

上記3ステップを30サイクル行った。

72℃ 7 min (最後の伸長)

4℃ 保持

### 【0065】

アガロースゲル電気泳動で、増幅された約1000 bpのバンドを切り出し、精製した。精製したDNA断片をpT7-blue vector(Novagen)にライゲーションした。大腸菌株(TG1)にトランスフォーメーションしてブルーホワイトセレクションを行い、白いコロニーの大腸菌よりplasmid DNAを精製して、挿入されたDNA断片の塩基配列をDNAシークエンサーにより決定した。

得られた全長の塩基配列を配列表の配列番号2に示し、全長のアミノ酸配列を配列表の配列番号1に示す。このクローンをCOGと命名した。

## 【0066】

## (7) 大腸菌での蛋白発現

得られた全長の塩基配列より、蛋白のN末端に相当する部分でプライマーを作製し、C末端側はオリゴdTプライマーを使用して、(2)で調製したFirst strand cDNAを鑄型としてPCRを行った。

使用プライマー

5'-GGGGATCCGACCATGGCTTTCAAAGCGAGGTG-3' (primer 8) (配列番号10)

## 【0067】

## PCR反応液組成

テンプレート (first strand cDNA)	3 $\mu$ l
X10 pyrobest バッファー	5 $\mu$ l
2.5 mM dNTPs	4 $\mu$ l
100 $\mu$ M primer8	1 $\mu$ l
100 $\mu$ M オリゴdTプライマー	1 $\mu$ l
ミリQ	35 $\mu$ l
pyrobest polymerase(5 U/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l

## 【0068】

## PCR反応条件

94°C 1 min(PAD)

94°C 30 sec (変性)

52°C 30 sec (鑄型へのプライマーのアニーリング)

72°C 1 min (プライマー伸長)

上記3ステップを30サイクル行った。

72°C 7 min (最後の伸長)

4°C 保持

## 【0069】

アガロースゲルの電気泳動で、増幅された約1000 bpのバンドを切り出し、精製してpRSET vector (Invitrogen) のBamHI、EcoRI部位にサブクローニングして、大腸菌株 (JM10

9-DE3) で発現させた。発現蛋白はN末端にHis-tagが付くようにコンストラクトしたので発現蛋白はNi-Agarose gel (QIAGEN) で精製した。精製の方法は付属のプロトコールに準じた。次に精製した蛋白の性質を解析した。

### 【0070】

#### (8) 蛍光特性の解析

20  $\mu$ M 蛍光蛋白 (COG) 、150 mM KC1, 50 mM HEPES pH 7.5 溶液を用いて、吸収スペクトルを測定した (図 2)。このスペクトルのピーク (507 nm) の値よりモル吸光係数を計算した。450 nm の吸収が 0.002 となるように蛍光蛋白を上記の緩衝液で希釈し、450 nm で励起した時の蛍光スペクトルと 550 nm の蛍光による励起スペクトルを測定した (図 1)。EGFP (CLONTECH) を同様に 450 nm の吸収が 0.002 となるようにして蛍光スペクトルを測定し、EGFP の量子収率を 0.6 として今回クローニングされた蛍光蛋白の量子収率を求めた。測定結果を表 1 に示す。

### 【0071】

#### 【表1】

表1

	励起極大	蛍光極大	モル吸光係数	量子収率	pH感受性	アミノ酸数
COG	507 nm	517 nm	104,050 (507nm)	0.29	pKa=5.5	227

### 【0072】

#### (9) pH感受性の測定

蛍光蛋白を各緩衝液で同濃度に希釈し、507 nm の吸収の値をとり pH 感受性を測定した (図 3)。各 pH の緩衝液は次の通り、

pH 4、5 : 酢酸バッファー

pH 6、11 : リン酸バッファー

pH 7、8 : HEPESバッファー

pH 9、10 : グリシンバッファー

pH 5 では pH 6~10 と較べて吸収のピークが 507 nm から 493 nm へ、蛍光のピークが 517 nm から 508 nm へと共に短波長側にシフトするという特性を持っていた。測定結果を図 4 及び図 5 に示す。

### 【0073】

## 【発明の効果】

本発明により、コモンサンゴ (Montipora sp.) 由来の新規な蛍光蛋白質が提供されることになった。本発明の蛍光蛋白質は、従来の蛍光蛋白質とは一次構造が異なる新規な蛋白質である。本発明の蛍光蛋白質は、所定の蛍光特性を有し、分子生物学的分析において有用である。

## 【0074】

## 【配列表】

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; RIKEN

&lt;120&gt; Fluorescent protein

&lt;130&gt; A31371A

&lt;160&gt; 10

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 227

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Montipora sp.

&lt;400&gt; 1

Met	Ala	Leu	Ser	Lys	Arg	Gly	Val	Lys	Gly	Glu	Met	Lys	Leu	Lys	Phe
1															

His	Met	Glu	Gly	Cys	Val	Asn	Gly	His	Glu	Phe	Thr	Ile	Lys	Gly	Glu

Gly	Thr	Gly	Gln	Pro	Tyr	Glu	Gly	Thr	Gln	Cys	Ile	Gln	Leu	Arg	Val

Glu	Lys	Gly	Gly	Pro	Leu	Pro	Phe	Ser	Val	Asp	Ile	Leu	Ser	Ala	Ala

Phe	Leu	Tyr	Gly	Asn	Arg	Cys	Met	Thr	Lys	Tyr	Pro	Gly	Gly	Ile	Val

Asp	Tyr	Phe	Lys	Asn	Ser	Cys	Pro	Ala	Gly	Tyr	Thr	Trp	Glu	Arg	Ser

Phe Leu Phe Glu Asp Gly Ala Val Cys Thr Ala Ser Ala Asp Ile Arg  
 100 105 110  
 Leu Ser Val Glu Asp Asn Cys Phe Tyr His Glu Ser Lys Phe Ser Gly  
 115 120 125  
 Val Asn Phe Pro Val Asp Gly Pro Val Met Thr Leu Ala Thr Thr Gly  
 130 135 140  
 Trp Glu Pro Ser Ser Glu Lys Met Val Pro Ser Gly Gly Ile Val Lys  
 145 150 155 160  
 Gly Asp Val Thr Met Tyr Leu Leu Leu Lys Asp Gly Gly Arg Tyr Arg  
 165 170 175  
 Cys Gln Phe Asn Ser Asn Tyr Lys Ala Lys Thr Glu Pro Lys Glu Met  
 180 185 190  
 Pro Asp Phe His Phe Val Glu His Lys Ile Val Arg Thr Asp Leu Gly  
 195 200 205  
 Gly Arg Asp Gln Lys Trp Gln Leu Val Gly Asn Ser Ala Ala Cys Ala  
 210 215 220  
 Ser Ala Phe  
 225  
 <210> 2  
 <211> 684  
 <212> DNA  
 <213> Montipora sp.  
 <400> 2  
 atg gct ctt tca aag cga ggt gtc aaa ggc gaa atg aaa ctg aaa ttc 48  
 Met Ala Leu Ser Lys Arg Gly Val Lys Gly Glu Met Lys Leu Lys Phe  
 1 5 10 15  
 cat atg gag ggg tgt gtt aac ggg cat gaa ttt aca atc aag ggc gaa 96  
 His Met Glu Gly Cys Val Asn Gly His Glu Phe Thr Ile Lys Gly Glu  
 20 25 30

ggc act ggg caa cct tac gaa ggg aca cag tgt att caa ctc cgt gtg 144

Gly Thr Gly Gln Pro Tyr Glu Gly Thr Gln Cys Ile Gln Leu Arg Val

35

40

45

gaa aaa ggg ggt cca ttg cca ttc tca gta gac ata ttg tcg gct gcg 192

Glu Lys Gly Gly Pro Leu Pro Phe Ser Val Asp Ile Leu Ser Ala Ala

50

55

60

ttt cta tac gga aac agg tgc atg acc aaa tat cct gga ggc ata gtt 240

Phe Leu Tyr Gly Asn Arg Cys Met Thr Lys Tyr Pro Gly Gly Ile Val

65

70

75

80

gac tat ttc aag aac tca tgc cct gct gga tat aca tgg gaa agg tct 288

Asp Tyr Phe Lys Asn Ser Cys Pro Ala Gly Tyr Thr Trp Glu Arg Ser

85

90

95

ttt ctc ttt gaa gat ggc gcg gtg tgc aca gca agt gca gat ata cgc 336

Phe Leu Phe Glu Asp Gly Ala Val Cys Thr Ala Ser Ala Asp Ile Arg

100

105

110

ttg agt gtc gag gat aac tgc ttt tat cac gaa tcc aag ttt agt gga 384

Leu Ser Val Glu Asp Asn Cys Phe Tyr His Glu Ser Lys Phe Ser Gly

115

120

125

gta aac ttt cct gtt gat gga cct gtg atg aca ctg gcg acg act ggt 432

Val Asn Phe Pro Val Asp Gly Pro Val Met Thr Leu Ala Thr Thr Gly

130

135

140

tgg gag cca tcc tcc gag aaa atg gtg ccc agt ggg ggg ata gtg aaa 480

Trp Glu Pro Ser Ser Glu Lys Met Val Pro Ser Gly Gly Ile Val Lys

145

150

155

160

ggg gat gtc acc atg tac ctc ctt ctg aag gat ggt ggg cgt tac cgg 528

Gly Asp Val Thr Met Tyr Leu Leu Lys Asp Gly Gly Arg Tyr Arg

165

170

175

tgc cag ttc aac agt aat tac aag gca aag act gag ccg aaa gag atg 576

Cys Gln Phe Asn Ser Asn Tyr Lys Ala Lys Thr Glu Pro Lys Glu Met

180 185 190  
cca gac ttt cac ttc gtg gag cat aag atc gta agg acc gac ctc ggt 624  
Pro Asp Phe His Phe Val Glu His Lys Ile Val Arg Thr Asp Leu Gly  
195 200 205  
ggc cga gac cag aaa tgg caa ctg gtg gga aat tct gct gca tgt gca 672  
Gly Arg Asp Gln Lys Trp Gln Leu Val Gly Asn Ser Ala Ala Cys Ala  
210 215 220  
agc gct ttc taa 684  
Ser Ala Phe  
225  
<210> 3  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA  
<400> 3  
gaaggrrtgyg tcaayggrca y 21  
<210> 4  
<211> 23  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA  
<400> 4  
acvggdccat ydgvaagaaa rtt 23  
<210> 5  
<211> 36  
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 5

ggccacgcgt cgactagtagc gggiiiggii gggiiig 36

<210> 6

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 6

ccatcttcaa agagaaaaga ccttt 25

<210> 7

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 7

ggccacgcgt cgactagtagc 20

<210> 8

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 8

catgagttct tgaaatagtc aac 23

<210> 9

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 9

atggctcttt caaagcgagg tg 22

<210> 10

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic DNA

<400> 10

ggggatccg accatggctc tttcaaagcg aggtg 35

### 【図面の簡単な説明】

#### 【図1】

図1は、本発明のコモンサンゴ (Montipora sp.) 由来の蛍光蛋白質 (COG) の蛍光スペクトル及び励起スペクトルを測定した結果を示す。

#### 【図2】

図2は、本発明のコモンサンゴ (Montipora sp.) 由来の蛍光蛋白質 (COG) の吸収スペクトルを示す。

#### 【図3】

図3は、本発明のコモンサンゴ (Montipora sp.) 由来の蛍光蛋白質 (COG) のpH感受性を示す。横軸はpH値を示し、縦軸は吸光度を示す。

#### 【図4】

図4は、本発明のコモンサンゴ (Montipora sp.) 由来の蛍光蛋白質 (COG) のpH5での蛍光スペクトル及び励起スペクトルを示す。

## 【図5】

図5は、本発明のコモンサンゴ (*Montipora* sp.) 由来の蛍光蛋白質 (COG) の pH5での吸収スペクトルを示す。

【書類名】

図面

【図1】

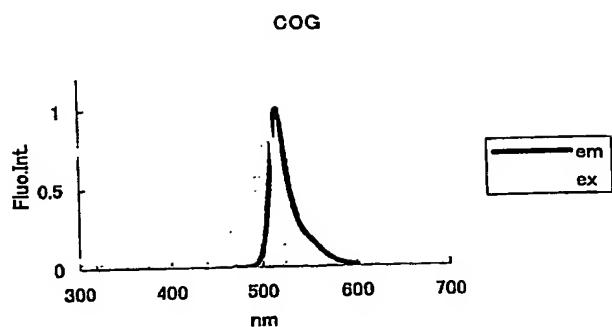


図1 蛍光スペクトル及び励起スペクトル

【図2】

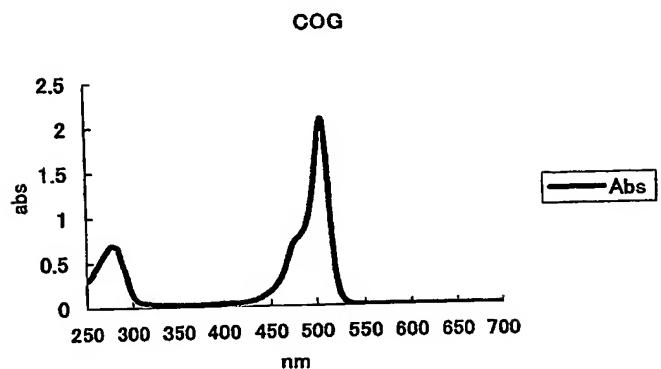


図2 吸収スペクトル

【図3】

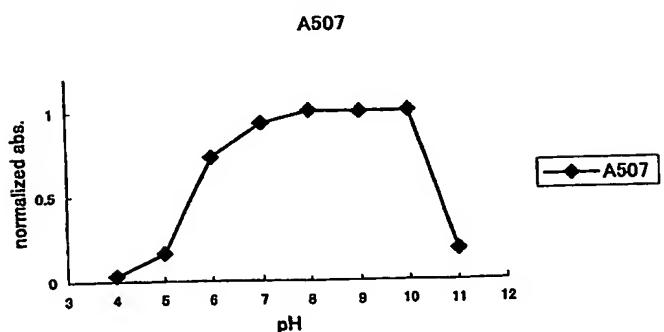


図3 pH感受性

【図4】

励起極大	蛍光極大
COG pH 5	493 nm

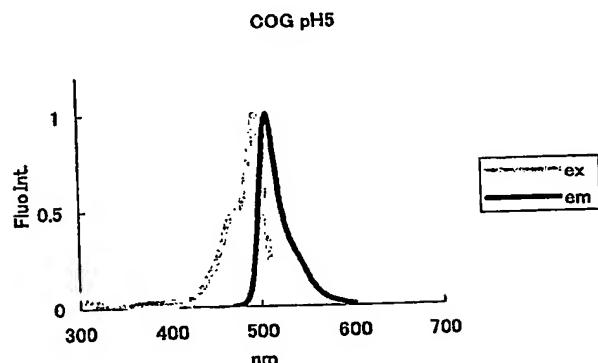


図4 蛍光スペクトル及び励起スペクトル(pH 5)

【図5】

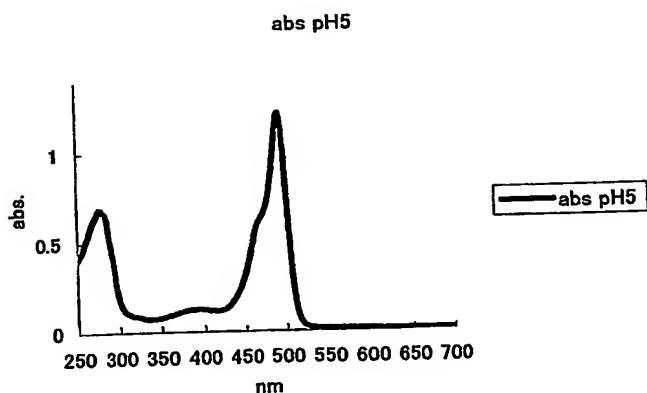


図5 吸収スペクトル(pH 5)

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 コモンサンゴ (*Montipora* sp.) に由来する、新規な蛍光蛋白質を提供すること。

【解決手段】 コモンサンゴ (*Montipora* sp.) 由来の下記の特性を有する蛍光蛋白質。

- (1) 励起極大波長が 507 nm である；
- (2) 蛍光極大波長が 517 nm である；
- (3) 507 nm におけるモル吸光係数が 104050 である；
- (4) 量子収率が 0.29 である；
- (5) 光吸収特性の pH 感受性が pKa = 約 5.5 である；

【選択図】 なし

## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-170324
受付番号	50300999342
書類名	特許願
担当官	小野寺 光子 1721
作成日	平成15年 7月18日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

## 【特許出願人】

【識別番号】	000006792
【住所又は居所】	埼玉県和光市広沢2番1号
【氏名又は名称】	理化学研究所
【特許出願人】	申請人
【識別番号】	110000109
【住所又は居所】	東京都中央区京橋一丁目8番7号 京橋日殖ビル 8階
【氏名又は名称】	特許業務法人特許事務所サイクス

## 【代理人】

【識別番号】	110000109
【住所又は居所】	東京都中央区京橋一丁目8番7号 京橋日殖ビル 8階
【氏名又は名称】	特許業務法人特許事務所サイクス

【書類名】 手続補正書  
【整理番号】 A31371A  
【提出日】 平成15年 7月15日  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【事件の表示】  
  【出願番号】 特願2003-170324  
【補正をする者】  
  【識別番号】 000006792  
  【氏名又は名称】 理化学研究所  
【補正をする者】  
  【識別番号】 390004097  
  【氏名又は名称】 株式会社医学生物学研究所  
【代理人】  
  【識別番号】 110000109  
  【氏名又は名称】 特許業務法人特許事務所サイクス  
  【代表者】 今村 正純  
【発送番号】 066236  
【手続補正】  
  【補正対象書類名】 特許願  
  【補正対象項目名】 特許出願人  
  【補正方法】 変更  
  【補正の内容】  
    【特許出願人】  
      【識別番号】 000006792  
      【氏名又は名称】 理化学研究所  
    【特許出願人】  
      【識別番号】 390004097  
      【氏名又は名称】 株式会社医学生物学研究所

## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2003-170324
受付番号	50301168980
書類名	手続補正書
担当官	小野寺 光子 1721
作成日	平成15年 7月18日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

## 【補正をする者】

【識別番号】	000006792
【住所又は居所】	埼玉県和光市広沢2番1号
【氏名又は名称】	理化学研究所

## 【補正をする者】

【識別番号】	390004097
【住所又は居所】	愛知県名古屋市中区丸の内3丁目5番10号 住友商事丸の内ビル5F
【氏名又は名称】	株式会社医学生物学研究所

## 【代理人】

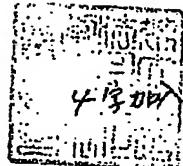
【識別番号】	110000109
【住所又は居所】	東京都中央区京橋一丁目8番7号 京橋日殖ビル8階
【氏名又は名称】	特許業務法人特許事務所サイクス

【書類名】 出願人名義変更届（一般承継）  
【提出日】 平成15年12月 1日  
【あて先】 特許庁長官殿  
【事件の表示】  
【出願番号】 特願2003-170324  
【承継人】  
【識別番号】 503359821  
【住所又は居所】 埼玉県和光市広沢2番1号  
【氏名又は名称】 独立行政法人理化学研究所  
【承継人代理人】  
【識別番号】 100075812  
【弁理士】  
【氏名又は名称】 吉武 賢次  
【提出物件の目録】  
【物件名】 権利の承継を証明する書面 1  
【援用の表示】 平成15年11月20日提出の特許第1575167号外98件  
にかかる一般承継による特許権の移転登録申請書  
【物件名】 登記簿謄本 1  
【援用の表示】 平成15年11月20日提出の特許第1575167号外98件  
にかかる一般承継による特許権の移転登録申請書  
【物件名】 委任状 1

【物件名】

委任状

【添付書類】



## 委 任 状

私は、

識別番号 100075812 弁理士 吉 武 賢 次 氏

を代理人と定めて下記事項を委任する。

9544

1. 別紙目録に記載の特許出願に関する出願人名義変更届をする件
2. 上記各項の手続を処理するため復代理人を選任及び解任する件

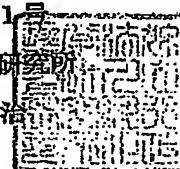
以 上

平成 15 年 11 月 13 日

住所又は居所 埼玉県和光市広沢2番1号

氏名又は名称 独立行政法人 理化学研究所

代表者 理事長 野 依 良 治



## 目録(1)

1. 特願昭 63-235737	51. 特願平 07-327372
2. 特願平 05-044143	52. 特願平 08-000652
3. 特願平 05-127257	53. 特願平 08-026368
4. 特願平 05-127258	54. 特願平 08-030850
5. 特願平 05-213675	55. 特願平 08-041279
6. 特願平 05-306164	56. 特願平 08-045903
7. 特願平 05-328611	57. 特願平 08-051604
8. 特願平 05-336746	58. 特願平 08-065715
9. 特願平 06-035100	59. 特願平 08-070071
10. 特願平 06-061792	60. 特願平 08-105667
11. 特願平 06-061793	61. 特願平 08-107784
12. 特願平 06-069150	62. 特願平 08-116473
13. 特願平 06-097098	63. 特願平 08-123475
14. 特願平 06-111624	64. 特願平 08-127005
15. 特願平 06-121100	65. 特願平 08-131746
16. 特願平 06-145908	66. 特願平 08-132846
17. 特願平 06-158670	67. 特願平 08-132854
18. 特願平 06-158671	68. 特願平 08-142676
19. 特願平 06-165751	69. 特願平 08-158078
20. 特願平 06-165752	70. 特願平 08-167401
21. 特願平 06-181857	71. 特願平 08-196331
22. 特願平 06-235742	72. 特願平 08-197050
23. 特願平 06-238603	73. 特願平 08-197051
24. 特願平 06-244764	74. 特願平 08-211946
25. 特願平 06-248486	75. 特願平 08-216506
26. 特願平 06-252942	76. 特願平 08-216508
27. 特願平 06-268723	77. 特願平 08-222352
28. 特願平 06-293933	78. 特願平 08-231066
29. 特願平 06-301372	79. 特願平 08-233442
30. 特願平 06-323795	80. 特願平 08-236685
31. 特願平 06-324490	81. 特願平 08-251410
32. 特願平 06-507966 (不記 2003-12420)	82. 特願平 08-262051
33. 特願平 07-007185	83. 特願平 08-302896
34. 特願平 07-069255	84. 特願平 08-308335
35. 特願平 07-082880	85. 特願平 08-308336
36. 特願平 07-083142	86. 特願平 08-311467
37. 特願平 07-117933	87. 特願平 08-315093
38. 特願平 07-133487	88. 特願平 08-317622
39. 特願平 07-205141	89. 特願平 08-320241
40. 特願平 07-214659	90. 特願平 08-508395
41. 特願平 07-217276	91. 特願平 09-002295
42. 特願平 07-236185	92. 特願平 09-010802
43. 特願平 07-240684	93. 特願平 09-019968
44. 特願平 07-249244	94. 特願平 09-019969
45. 特願平 07-259922	95. 特願平 09-019971
46. 特願平 07-282716	96. 特願平 09-024890
47. 特願平 07-302793	97. 特願平 09-028982
48. 特願平 07-306004	98. 特願平 09-046824
49. 特願平 07-311711	99. 特願平 09-049254
50. 特願平 07-311715	100. 特願平 09-053478

## 目録(2)

101. 特願平09-054595	151. 特願平10-045434
102. 特願平09-056654	152. 特願平10-049499
103. 特願平09-057342	153. 特願平10-049867
104. 特願平09-058774	154. 特願平10-051489
105. 特願平09-067611	155. 特願平10-051490
106. 特願平09-074394	156. 特願平10-051491
107. 特願平09-080480	157. 特願平10-051492
108. 特願平09-082965	158. 特願平10-051493
109. 特願平09-091523	159. 特願平10-060740
110. 特願平09-091591	160. 特願平10-060741
111. 特願平09-091694	161. 特願平10-061895
112. 特願平09-096968	162. 特願平10-076139
113. 特願平09-099061	163. 特願平10-085207
114. 特願平09-099109	164. 特願平10-085208
115. 特願平09-104093	165. 特願平10-103083
116. 特願平09-119730	166. 特願平10-103115
117. 特願平09-129068	167. 特願平10-103671
118. 特願平09-134525	168. 特願平10-104093
119. 特願平09-147964	169. 特願平10-113493
120. 特願平09-155364	170. 特願平10-116378
121. 特願平09-159963	171. 特願平10-121456
122. 特願平09-163630	172. 特願平10-127520
123. 特願平09-163631	173. 特願平10-136198
124. 特願平09-171924	174. 特願平10-149603
125. 特願平09-175896	175. 特願平10-150494
126. 特願平09-180423	176. 特願平10-151245
127. 特願平09-189436	177. 特願平10-155838
128. 特願平09-198201	178. 特願平10-155841
129. 特願平09-208866	179. 特願平10-158104
130. 特願平09-221067	180. 特願平10-156108
131. 特願平09-228345	181. 特願平10-198313
132. 特願平09-230870	182. 特願平10-200280
133. 特願平09-253740	183. 特願平10-217132
134. 特願平09-256795	184. 特願平10-217180
135. 特願平09-271782	185. 特願平10-222837
136. 特願平09-291995	186. 特願平10-227939
137. 特願平09-297084	187. 特願平10-229591
138. 特願平09-307627	188. 特願平10-232520
139. 特願平09-308597	189. 特願平10-232590
140. 特願平09-309848	190. 特願平10-236009
141. 特願平09-327140	191. 特願平10-237485
142. 特願平09-327609	192. 特願平10-238144
143. 特願平09-328742	193. 特願平10-245293
144. 特願平09-360327	194. 特願平10-250598
145. 特願平10-002030	195. 特願平10-250611
146. 特願平10-010471	196. 特願平10-252128
147. 特願平10-014152	197. 特願平10-260347
148. 特願平10-015690	198. 特願平10-260416
149. 特願平10-024892	199. 特願平10-268791
150. 特願平10-043335	200. 特願平10-269859

## 目録(3)

201. 特願平10-272529	251. 特願平11-135137
202. 特願平10-280351	252. 特願平11-135482
203. 特願平10-308533	253. 特願平11-143429
204. 特願平10-309765	254. 特願平11-144005
205. 特願平10-311673	255. 特願平11-147097
206. 特願平10-311674	256. 特願平11-151099
207. 特願平10-311675	257. 特願平11-166247
208. 特願平10-314856	258. 特願平11-173839
209. 特願平10-315751	259. 特願平11-179278
210. 特願平10-338896	260. 特願平11-186052
211. 特願平10-338897	261. 特願平11-193235
212. 特願平10-338898	262. 特願平11-224269
213. 特願平10-338899	263. 特願平11-225060
214. 特願平10-352428	264. 特願平11-225832
215. 特願平10-354665	265. 特願平11-225839
216. 特願平10-363297	266. 特願平11-226176
217. 特願平10-363329	267. 特願平11-234800
218. 特願平10-506788	268. 特願平11-240325
219. 特願平10-532832	269. 特願平11-240910
220. 特願平10-535583	270. 特願平11-241737
221. 特願平11-008183	271. 特願平11-242438
222. 特願平11-013380	272. 特願平11-242490
223. 特願平11-015176	273. 特願平11-253851
224. 特願平11-031724	274. 特願平11-260947
225. 特願平11-035776	275. 特願平11-277759
226. 特願平11-046372	276. 特願平11-278976
227. 特願平11-055835	277. 特願平11-279324
228. 特願平11-055867	278. 特願平11-281632
229. 特願平11-055930	279. 特願平11-303976
230. 特願平11-056957	280. 特願平11-309616
231. 特願平11-057381	281. 特願平11-315036
232. 特願平11-057749	282. 特願平11-321282
233. 特願平11-058103	283. 特願平11-336079
234. 特願平11-061079	284. 特願平11-346467
235. 特願平11-061080	285. 特願平11-354563
236. 特願平11-064193	286. 特願平11-360274
237. 特願平11-064372	287. 特願平11-365899
238. 特願平11-064506	288. 特願平11-373483
239. 特願平11-065136	289. 特願平11-510791
240. 特願平11-074385	290. 特願平11-515324
241. 特願平11-081225	291. 特願2000-001783
242. 特願平11-090383	292. 特願2000-005221
243. 特願平11-091875	293. 特願2000-009363
244. 特願平11-103231	294. 特願2000-010516
245. 特願平11-104509	295. 特願2000-011147
246. 特願平11-106920	296. 特願2000-011623
247. 特願平11-124187	297. 特願2000-016518
248. 特願平11-130771	298. 特願2000-016622
249. 特願平11-130814	299. 特願2000-017112
250. 特願平11-130815	300. 特願2000-018612

## 目録(4)

301. 特願 2000-019195	351. 特願 2000-141763
302. 特願 2000-019528	352. 特願 2000-148843
303. 特願 2000-020067	353. 特願 2000-152455
304. 特願 2000-030321	354. 特願 2000-152469
305. 特願 2000-034109	355. 特願 2000-154484
306. 特願 2000-039082	356. 特願 2000-161895
307. 特願 2000-040355	357. 特願 2000-163122
308. 特願 2000-041927	358. 特願 2000-164584
309. 特願 2000-041929	359. 特願 2000-179723
310. 特願 2000-045318	360. 特願 2000-181281
311. 特願 2000-045855	361. 特願 2000-184259
312. 特願 2000-051488	362. 特願 2000-184295
313. 特願 2000-051650	363. 特願 2000-191007
314. 特願 2000-052040	364. 特願 2000-191265
315. 特願 2000-053707	365. 特願 2000-192332
316. 特願 2000-054949	366. 特願 2000-193817
317. 特願 2000-056093	367. 特願 2000-195384
318. 特願 2000-056879	368. 特願 2000-196991
319. 特願 2000-057564	369. 特願 2000-197022
320. 特願 2000-057565	370. 特願 2000-202801
321. 特願 2000-057566	371. 特願 2000-216457
322. 特願 2000-058133	372. 特願 2000-223714
323. 特願 2000-058282	373. 特願 2000-224970
324. 特願 2000-062316	374. 特願 2000-225486
325. 特願 2000-064142	375. 特願 2000-225864
326. 特願 2000-064209	376. 特願 2000-225978
327. 特願 2000-071119	377. 特願 2000-226361
328. 特願 2000-076122	378. 特願 2000-229191
329. 特願 2000-085874	379. 特願 2000-230551
330. 特願 2000-089078	380. 特願 2000-237165
331. 特願 2000-092693	381. 特願 2000-237166
332. 特願 2000-100395	382. 特願 2000-237533
333. 特願 2000-105139	383. 特願 2000-246309
334. 特願 2000-105917	384. 特願 2000-248331
335. 特願 2000-107160	385. 特願 2000-249232
336. 特願 2000-108409	386. 特願 2000-256149
337. 特願 2000-109638	387. 特願 2000-257080
338. 特願 2000-109954	388. 特願 2000-257083
339. 特願 2000-118361	389. 特願 2000-260030
340. 特願 2000-120874	390. 特願 2000-261233
341. 特願 2000-123634	391. 特願 2000-264743
342. 特願 2000-128431	392. 特願 2000-265344
343. 特願 2000-131049	393. 特願 2000-278502
344. 特願 2000-131050	394. 特願 2000-279557
345. 特願 2000-131745	395. 特願 2000-292422
346. 特願 2000-134427	396. 特願 2000-292832
347. 特願 2000-136551	397. 特願 2000-299812
348. 特願 2000-136572	398. 特願 2000-307464
349. 特願 2000-138977	399. 特願 2000-308248
350. 特願 2000-141566	400. 特願 2000-309581

## 目録(5)

401. 特願2000-319775	451. 特願2001-071435
402. 特願2000-322056	452. 特願2001-072650
403. 特願2000-333311	453. 特願2001-072668
404. 特願2000-334686	454. 特願2001-072963
405. 特願2000-334969	455. 特願2001-073028
406. 特願2000-343912	456. 特願2001-074964
407. 特願2000-347398	457. 特願2001-074965
408. 特願2000-347865	458. 特願2001-077257
409. 特願2000-358121	459. 特願2001-078671
410. 特願2000-368566	460. 特願2001-084173
411. 特願2000-374626	461. 特願2001-089541
412. 特願2000-375090	462. 特願2001-091911
413. 特願2000-378421	463. 特願2001-092337
414. 特願2000-378942	464. 特願2001-116171
415. 特願2000-378950	465. 特願2001-124294
416. 特願2000-384771	466. 特願2001-124452
417. 特願2000-387016	467. 特願2001-127575
418. 特願2000-394815	468. 特願2001-127576
419. 特願2000-396445	469. 特願2001-135357
420. 特願2000-399940	470. 特願2001-137087
421. 特願2000-400336	471. 特願2001-138103
422. 特願2000-401110	472. 特願2001-142683
423. 特願2000-401245	473. 特願2001-147081
424. 特願2000-401258	474. 特願2001-152364
425. 特願2000-503838	475. 特願2001-152379
426. 特願2000-571733	476. 特願2001-153447
427. 特願2000-571943	477. 特願2001-155572
428. 特願2000-602588	478. 特願2001-163740
429. 特願2000-602900	479. 特願2001-164819
430. 特願2000-618709	480. 特願2001-164997
431. 特願2001-003476	481. 特願2001-165133
432. 特願2001-005615	482. 特願2001-167910
433. 特願2001-007979	483. 特願2001-168784
434. 特願2001-016626	484. 特願2001-171705
435. 特願2001-025030	485. 特願2001-173331
436. 特願2001-037141	486. 特願2001-174421
437. 特願2001-037147	487. 特願2001-174553
438. 特願2001-042501	488. 特願2001-175898
439. 特願2001-044933	489. 特願2001-178169
440. 特願2001-047762	490. 特願2001-179858
441. 特願2001-050845	491. 特願2001-180552
442. 特願2001-053550	492. 特願2001-180554
443. 特願2001-064717	493. 特願2001-187735
444. 特願2001-059115	494. 特願2001-197185
445. 特願2001-059892	495. 特願2001-197897
446. 特願2001-060848	496. 特願2001-200854
447. 特願2001-062703	497. 特願2001-201356
448. 特願2001-065799	498. 特願2001-202971
449. 特願2001-065917	499. 特願2001-203089
450. 特願2001-068285	500. 特願2001-206505

## 目録(6)

501. 特願2001-206522	551. 特願2001-325367
502. 特願2001-206523	552. 特願2001-326872
503. 特願2001-209305	553. 特願2001-327853
504. 特願2001-212947	554. 特願2001-329023
505. 特願2001-216505	555. 特願2001-332168
506. 特願2001-220219	556. 特願2001-337467
507. 特願2001-226176	557. 特願2001-339396
508. 特願2001-228287	558. 特願2001-339593
509. 特願2001-228374	559. 特願2001-346035
510. 特願2001-235412	560. 特願2001-347316
511. 特願2001-235747	561. 特願2001-347637
512. 特願2001-238951	562. 特願2001-349614
513. 特願2001-241023	563. 特願2001-351730
514. 特願2001-243930	564. 特願2001-352189
515. 特願2001-246642	565. 特願2001-353038
516. 特願2001-249976	566. 特願2001-358446
517. 特願2001-254377	567. 特願2001-358581
518. 特願2001-254378	568. 特願2001-359710
519. 特願2001-255589	569. 特願2001-374928
520. 特願2001-256576	570. 特願2001-376591
521. 特願2001-257188	571. 特願2001-378757
522. 特願2001-261158	572. 特願2001-380473
523. 特願2001-266004	573. 特願2001-382537
524. 特願2001-266069	574. 特願2001-382539
525. 特願2001-266454	575. 特願2001-382599
526. 特願2001-267194	576. 特願2001-385258
527. 特願2001-267379	577. 特願2001-385512
528. 特願2001-267863	578. 特願2001-385513
529. 特願2001-272977	579. 特願2001-385538
530. 特願2001-273964	580. 特願2001-388116
531. 特願2001-276053	581. 特願2001-390122
532. 特願2001-279406	582. 特願2001-392087
533. 特願2001-280319	583. 特願2001-392088
534. 特願2001-285145	584. 特願2001-395196
535. 特願2001-291059	585. 特願2001-396120
536. 特願2001-292223	586. 特願2001-397762
537. 特願2001-292224	587. 特願2001-397998
538. 特願2001-293000	588. 特願2001-401139
539. 特願2001-293054	589. 特願2001-515803
540. 特願2001-293936	590. 特願2001-523852
541. 特願2001-294013	591. 特願2001-557672
542. 特願2001-298140	592. 特願2002-000993
543. 特願2001-298402	593. 特願2002-005746
544. 特願2001-307340	594. 特願2002-010344
545. 特願2001-309501	595. 特願2002-011558
546. 特願2001-309508	596. 特願2002-019752
547. 特願2001-309984	597. 特願2002-020329
548. 特願2001-310554	598. 特願2002-022499
549. 特願2001-313430	599. 特願2002-028046
550. 特願2001-319360	600. 特願2002-028109

## 目録(7)

601. 特願2002-040151	651. 特願2002-162157
602. 特願2002-042829	652. 特願2002-162211
603. 特願2002-044340	653. 特願2002-162365
604. 特願2002-044640	654. 特願2002-167759
605. 特願2002-046188	655. 特願2002-170068
606. 特願2002-047799	656. 特願2002-170902
607. 特願2002-053190	657. 特願2002-176435
608. 特願2002-053575	658. 特願2002-176583
609. 特願2002-055272	659. 特願2002-183722
610. 特願2002-057253	660. 特願2002-185966
611. 特願2002-057565	661. 特願2002-187362
612. 特願2002-057935	662. 特願2002-187957
613. 特願2002-057963	663. 特願2002-188281
614. 特願2002-066249	664. 特願2002-189265
615. 特願2002-070624	665. 特願2002-194627
616. 特願2002-070987	666. 特願2002-197812
617. 特願2002-071924	667. 特願2002-201443
618. 特願2002-074902	668. 特願2002-201575
619. 特願2002-078164	669. 特願2002-202118
620. 特願2002-081467	670. 特願2002-205814
621. 特願2002-081502	671. 特願2002-205825
622. 特願2002-083081	672. 特願2002-217714
623. 特願2002-084139	673. 特願2002-221188
624. 特願2002-085017	674. 特願2002-225469
625. 特願2002-087342	675. 特願2002-225724
626. 特願2002-094681	676. 特願2002-226859
627. 特願2002-095132	677. 特願2002-227286
628. 特願2002-095389	678. 特願2002-229686
629. 特願2002-100431	679. 特願2002-230562
630. 特願2002-106561	680. 特願2002-235294
631. 特願2002-119320	681. 特願2002-235737
632. 特願2002-120371	682. 特願2002-236838
633. 特願2002-123347	683. 特願2002-237058
634. 特願2002-128854	684. 特願2002-237092
635. 特願2002-133717	685. 特願2002-248946
636. 特願2002-133749	686. 特願2002-253322
637. 特願2002-134313	687. 特願2002-253689
638. 特願2002-141187	688. 特願2002-253697
639. 特願2002-141438	689. 特願2002-254096
640. 特願2002-142260	690. 特願2002-257924
641. 特願2002-149471	691. 特願2002-260788
642. 特願2002-149931	692. 特願2002-261499
643. 特願2002-150541	693. 特願2002-264969
644. 特願2002-154688	694. 特願2002-267114
645. 特願2002-154695	695. 特願2002-268987
646. 特願2002-154823	696. 特願2002-270917
647. 特願2002-158237	697. 特願2002-271375
648. 特願2002-158352	698. 特願2002-271473
649. 特願2002-160277	699. 特願2002-273996
650. 特願2002-162148	700. 特願2002-274469

## 目録(8)

701. 特願2002-276051	751. 特願2003-012738
702. 特願2002-282746	752. 特願2003-012774
703. 特願2002-286487	753. 特願2003-015968
704. 特願2002-289209	754. 特願2003-016044
705. 特願2002-295332	755. 特願2003-016940
706. 特願2002-296911	756. 特願2003-017397
707. 特願2002-299429	757. 特願2003-021499
708. 特願2002-301875	758. 特願2003-024347
709. 特願2002-303838	759. 特願2003-024620
710. 特願2002-312131	760. 特願2003-025277
711. 特願2002-320102	761. 特願2003-027647
712. 特願2002-320704	762. 特願2003-027648
713. 特願2002-325909	763. 特願2003-031882
714. 特願2002-325920	764. 特願2003-032932
715. 特願2002-332232	765. 特願2003-038206
716. 特願2002-339344	766. 特願2003-040642
717. 特願2002-339392	767. 特願2003-043961
718. 特願2002-339541	768. 特願2003-050153
719. 特願2002-339551	769. 特願2003-050446
720. 特願2002-341195	770. 特願2003-052520
721. 特願2002-343807	771. 特願2003-052602
722. 特願2002-344279	772. 特願2003-052613
723. 特願2002-345597	773. 特願2003-052877
724. 特願2002-347401	774. 特願2003-053023
725. 特願2002-348760	775. 特願2003-054182
726. 特願2002-349042	776. 特願2003-054798
727. 特願2002-354594	777. 特願2003-054799
728. 特願2002-357768	778. 特願2003-054846
729. 特願2002-357900	779. 特願2003-054847
730. 特願2002-358019	780. 特願2003-054848
731. 特願2002-358967	781. 特願2003-054849
732. 特願2002-360972	782. 特願2003-055452
733. 特願2002-360975	783. 特願2003-056628
734. 特願2002-368112	784. 特願2003-061426
735. 特願2002-376555	785. 特願2003-063532
736. 特願2002-376774	786. 特願2003-065013
737. 特願2002-376831	787. 特願2003-071028
738. 特願2002-379214	788. 特願2003-072979
739. 特願2002-380624	789. 特願2003-074168
740. 特願2002-381888	790. 特願2003-076107
741. 特願2002-382170	791. 特願2003-078999
742. 特願2002-383870	792. 特願2003-079598
743. 特願2002-521644	793. 特願2003-079613
744. 特願2002-532458	794. 特願2003-082466
745. 特願2002-546564	795. 特願2003-083318
746. 特願2002-548185	796. 特願2003-083433
747. 特願2002-570743	797. 特願2003-083480
748. 特願2003-003450	798. 特願2003-085193
749. 特願2003-012550	799. 特願2003-089026
750. 特願2003-012694	800. 特願2003-090331

## 目録(9)

801. 特願2003-091446	851. 特願2003-127135
802. 特願2003-092654	852. 特願2003-127150
803. 特願2003-093642	853. 特願2003-128818
804. 特願2003-094272	854. 特願2003-128897
805. 特願2003-094719	855. 特願2003-129347
806. 特願2003-095770	856. 特願2003-131313
807. 特願2003-095884	857. 特願2003-132280
808. 特願2003-095885	858. 特願2003-132605
809. 特願2003-095886	859. 特願2003-132806
810. 特願2003-095904	860. 特願2003-135591
811. 特願2003-097283	861. 特願2003-136445
812. 特願2003-097327	862. 特願2003-139397
813. 特願2003-101917	863. 特願2003-140684
814. 特願2003-104928	864. 特願2003-142303
815. 特願2003-105362	865. 特願2003-143932
816. 特願2003-107267	866. 特願2003-145221
817. 特願2003-107268	867. 特願2003-145390
818. 特願2003-107647	868. 特願2003-147820
819. 特願2003-107885	869. 特願2003-150690
820. 特願2003-109575	870. 特願2003-153014
821. 特願2003-115750	871. 特願2003-153015
822. 特願2003-115793	872. 特願2003-153016
823. 特願2003-115847	873. 特願2003-153985
824. 特願2003-115888	874. 特願2003-154009
825. 特願2003-116232	875. 特願2003-154841
826. 特願2003-116895	876. 特願2003-155397
827. 特願2003-118161	877. 特願2003-155407
828. 特願2003-118186	878. 特願2003-158017
829. 特願2003-119749	879. 特願2003-161005
830. 特願2003-119930	880. 特願2003-164126
831. 特願2003-120934	881. 特願2003-170051
832. 特願2003-121233	882. 特願2003-170324
833. 特願2003-121261	883. 特願2003-170325
834. 特願2003-121273	884. 特願2003-170326
835. 特願2003-121780	885. 特願2003-170327
836. 特願2003-122245	886. 特願2003-170328
837. 特願2003-123984	887. 特願2003-170329
838. 特願2003-124654	888. 特願2003-170330
839. 特願2003-124655	889. 特願2003-170573
840. 特願2003-124826	890. 特願2003-171576
841. 特願2003-124829	891. 特願2003-171619
842. 特願2003-124833	892. 特願2003-172898
843. 特願2003-124835	893. 特願2003-175819
844. 特願2003-125388	894. 特願2003-177298
845. 特願2003-125403	895. 特願2003-180198
846. 特願2003-125405	896. 特願2003-182958
847. 特願2003-127090	897. 特願2003-192763
848. 特願2003-127093	898. 特願2003-192775
849. 特願2003-127109	899. 特願2003-194837
850. 特願2003-127130	900. 特願2003-197229

## 目録(10)

901. 特願 2003-198340	951. 特願 2003-338191
902. 特願 2003-204075	952. 特願 2003-339542
903. 特願 2003-205349	953. 特願 2003-340181
904. 特願 2003-205710	954. 特願 2003-342519
905. 特願 2003-206546	
906. 特願 2003-207698	
907. 特願 2003-207771	
908. 特願 2003-207772	
909. 特願 2003-207850	
910. 特願 2003-270049	
911. 特願 2003-271473	
912. 特願 2003-272421	
913. 特願 2003-275055	
914. 特願 2003-277958	
915. 特願 2003-279130	
916. 特願 2003-283972	
917. 特願 2003-284055	
918. 特願 2003-286640	
919. 特願 2003-289138	
920. 特願 2003-293912	
921. 特願 2003-296474	
922. 特願 2003-298558	
923. 特願 2003-299424	
924. 特願 2003-303979	
925. 特願 2003-304452	
926. 特願 2003-304453	
927. 特願 2003-305689	
928. 特願 2003-305844	
929. 特願 2003-306137	
930. 特願 2003-307564	
931. 特願 2003-313014	
932. 特願 2003-315355	
933. 特願 2003-318801	
934. 特願 2003-321497	
935. 特願 2003-322948	
936. 特願 2003-324974	
937. 特願 2003-326510	
938. 特願 2003-327645	
939. 特願 2003-327907	
940. 特願 2003-328600	
941. 特願 2003-328840	
942. 特願 2003-330418	
943. 特願 2003-330569	
944. 特願 2003-331848	
945. 特願 2003-332756	
946. 特願 2003-333798	
947. 特願 2003-333932	
948. 特願 2003-334036	
949. 特願 2003-334083	
950. 特願 2003-336365	

## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願2003-170324
受付番号	20308550875
書類名	出願人名義変更届（一般承継）
担当官	小野寺 光子 1721
作成日	平成16年 3月15日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

## 【提出された物件の記事】

【提出物件名】	委任状（代理権を証明する書面）	1
---------	-----------------	---

特願 2003-170324

出願人履歴情報

識別番号

[000006792]

1. 変更年月日 1990年 8月28日

[変更理由] 新規登録

住 所 埼玉県和光市広沢2番1号

氏 名 理化学研究所

特願 2003-170324

出願人履歴情報

識別番号

[110000109]

1. 変更年月日 2002年 2月 8日

[変更理由] 新規登録

住所 東京都中央区京橋一丁目8番7号 京橋日殖ビル8階  
氏名 特許業務法人特許事務所サイクス

特願 2003-170324

出願人履歴情報

識別番号

[390004097]

1. 変更年月日

[変更理由]

住所

氏名

1998年 7月22日

住所変更

愛知県名古屋市中区丸の内3丁目5番10号 住友商事丸の内

ビル5F

株式会社医学生物学研究所

特願 2003-170324

出願人履歴情報

識別番号

[503359821]

1. 変更年月日

[変更理由]

住 所  
氏 名

2003年10月 1日

新規登録

埼玉県和光市広沢2番1号  
独立行政法人理化学研究所